

⑩ 日本国特許庁 (JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭59—112888

⑬ Int. Cl.³
C 02 F 1/28

識別記号
C D Y

庁内整理番号
6685—4D

⑭ 公開 昭和59年(1984)6月29日

発明の数 1
審査請求 未請求

(全 5 頁)

⑮ 水溶液中のバイロジエンの除去方法

⑯ 特 願 昭57—220314

⑰ 出 願 昭57(1982)12月17日

⑱ 発 明 者 寺本和雄

大津市園山1丁目1番1号東レ
株式会社滋賀事業場内

⑲ 発 明 者 村上睦夫

⑲ 発 明 者 木村睦

大津市園山1丁目1番1号東レ
株式会社滋賀事業場内

大津市園山1丁目1番1号東レ
株式会社滋賀事業場内

⑳ 出 願 人 東レ株式会社

東京都中央区日本橋室町2丁目
2番地

明 細 書

1. 発明の名称

水溶液中のバイロジエンの除去方法

2. 特許請求の範囲

グラム陰性菌で汚染された水または水溶液を、アミノ基含有繊維と接触させることを特徴とする水または水溶液中のグラム陰性菌および該細胞壁成分の除去方法。

3. 発明の詳細な説明

本発明はグラム陰性菌で汚染された水または水溶液から、該菌体および該菌体細胞壁成分を除去する方法に関する。

グラム陰性菌は大腸菌、サルモネラ菌、赤痢菌、緑膿菌あるいは靈菌などとして知られるごく身近に存在する細菌であるが、その細胞壁のリボ多糖体は生体内で発熱作用を示す物質すなわちバイロジエンとして知られている。

したがって、消化管を経ないで生体内に直接投与する注射用の水、生理的食塩水、ブドウ糖やビタミンなどの栄養成分を含む輸液、血液透析用の

透析液、点眼液のほか、無菌動物飼育用の水および栄養液からはグラム陰性菌の生菌は勿論、死菌およびその細胞壁成分をも厳密に除去しなければならない。

通常、無菌水の製造には高分子膜による逆浸透圧法が用いられているが、この方法は溶液からのバイロジエンの除去には用いることができない。また、タンパク質などの水溶液からの菌体の除去には孔径0.5 μ m程度の多孔質膜によるろ過が行われているが、菌体が存在する場合にはリボ多糖体も共存するのが普通であり、リボ多糖体の分子量は千数百 (*Escherichia coli* 0111 B4 のリビッドAの分子量は1700)乃至数百万(会合状態)であるので、この場合はバイロジエンの完全除去にはならない。

このように膜によるろ過法は大きさの分布の狭い物質の除去には適しているが、大きさの分布の広い物質の除去には適さない。また、同じ大きさの物質を分離することは出来ない。

そこで本発明者らは、溶質が存在しても有効な

リボ多糖体の除去方法を見い出すべく鋭意検討した結果、本発明に到達した。

即ち、本発明は、グラム陰性菌で汚染された水または水溶液を、アミノ基含有繊維と接触させることを特徴とする水または水溶液中のグラム陰性菌および該細胞壁成分の除去方法を提供するものである。

本発明の特徴は、溶質の分子量の大小に関係なく、水溶液中のグラム陰性菌及び該死菌及び該菌体細胞壁成分を吸着除去できることにある。また、繊維状であるため、樹脂状である場合のように、微粒子の放出のないこと、および、ろ過膜と異なり再生による再使用が可能であることも本発明の特徴である。

本発明で用いるアミノ基含有繊維は、第1級または第2級または第3級アミノ基または第4級アンモニウム基を0.01ミリモル/g以上、より好ましくは1ミリモル/g以上の密度で有する繊維であつて、使用条件において物理的および化学的に安定であることのほかには特に制限は無いが、使

と、多芯海島型構造でポリプロピレンにより補強したポリスチレン繊維をホルムアルデヒドで架橋したのち、ポリスチレンの芳香核置換基として、アミノメチル基、ジメチルアミノメチル基、ジメチルアミノアセトアミドメチル基、ジエチルアミノアセトアミドメチル基、N-メチルピペラジノアセトアミドメチル基、トリメチルアンモニウムアセトアミドメチル基、トリエチルアンモニウムアセトアミドメチル基、トリn-ブチルアンモニウムアセトアミドメチル基、ω-アミノヘキシルアミノアセトアミドメチル基、ω-アミノウンデカノアミノアセトアミドメチル基などを導入した繊維があげられる。

本発明で用いるアミノ基含有繊維の太さには特に制限はないが、細い方が表面積が大きくなり、吸着容量および速度が大きくなる。該繊維の断面形状は真円のほか、T形、三角形などの種々の異形断面であつてもよく、また、中空繊維状であつてもよい。また、織物、編物、紙などの高次形態でも用いうる。繊維が水に対してよくなじむと、

用済繊維の再生・再使用を行なうためには耐酸・耐アルカリ性に富むことが好ましい。また、繊維中のアミノ基の結合状態は、幹ポリマに直接結合している場合より、炭素数4個以上、より好ましくは12個以上のメチレン鎖に相当する長さの置換基を介して結合している方が、リボ多糖体に対する吸着容量が大きいので好ましい。また、該アミノ基は第1～3級アミノ基であるより、第4級アンモニウム基である方が吸着容量が大きい。

本発明で用いるアミノ基含有繊維の一例をあげるとセルロース繊維にアミノ基を導入したもの、ポリビニルアルコール・アセタール繊維にアミノ基を導入したもの、ポリ塩化ビニル繊維にアミノ基を導入したもの、および、ポリスチレン繊維にアミノ基を導入したもの等があるが、とりわけ、ポリスチレン繊維にアミノ基を導入したものは化学的に安定である特徴があり、かつ、該繊維をポリα-オレフィンで補強した繊維は機械的特性に優れる。

該アミノ化ポリスチレン繊維の具体例をあげる

繊維を乾燥して保存しても、必要なときにすぐ使うことができるので、繊維の含水度は0.3より大きいことが好ましい。また、該繊維は、予め、処理されるべき水または水溶液と同一のpHの緩衝液で処理しておくのが良い。

本発明の実施におけるアミノ基含有繊維は通常クロマトカラムに充填するか、あるいは、ろ布、または、ろ紙の形で用いられる。

本発明の実施の温度は低い方が除去効率が高いので、通常0～40℃である。

本発明の実施は多孔質膜によるろ過と組み合わせで行なうことができる。また、一度使用したアミノ基含有繊維は酸またはアルカリで洗浄すれば、再び使用することができる。

以下、本発明の実施例により、さらに具体的に説明する。

実施例1

Escherichia coli strain B (Sigma社) を0.06 mg/mlの濃度で分散させた水10 mlに表1の各試料0.09 gを入れ、20～25℃で2時間振とう

したのち、No. 2の定性ろ紙でろ過し、ろ液について濁度法で水中の菌体濃度を求めた。濁度は280 mμの吸光度測定によつた。結果を表1に示す。表からアミノ基含有繊維が、市販のイオン交換樹脂IRA-938に比べ、2倍以上の吸着能を有することがわかる。いずれの試料も実験に先立つて、0.07 M-リン酸緩衝液で洗浄して、pH 7.4に調整したのち、真空乾燥して用いた。

各試料は以下のように調製した。

〔原料繊維〕

ポリプロピレン（三井“ノーブレン”J3HG）

表 1

試 料	菌体除去率 (%)	菌体吸着量 mg/g 試料
本 発 明 繊 維 1	76.5	5.1
本 発 明 繊 維 2	94.5	6.3
本 発 明 繊 維 3	97.5	6.5
本 発 明 繊 維 4	93.0	6.2
イオン交換樹脂 IRA-938 (比較)	40.5	2.7

アミノアセトメチル化ポリスチレン繊維（本発明繊維1）を得た。このものの交換容量は2.68ミリ当量/gであり、pH 7.4の0.07 M-リン酸緩衝液中の含水度は2.4であつた。ただし、含水度とは、繊維を十分に膨潤させたのち、遠心脱水したあとの湿重量(W_1)と乾燥重量(W_0)とから次式により算出した値を意味する。

$$\text{含水度} = \frac{W_1}{W_0} - 1$$

〔本発明繊維2〕

原料繊維3 gを100 mlの20% N-メチルピペラジン・ジメチルスルホキサイド溶液に浸し、100℃で3時間加熱したのち、水で十分に洗浄して、N-メチルピペラジノアセトメチル化ポリスチレン繊維（本発明繊維2）を得た。このものの交換容量は2.09ミリ当量/gであり、pH 7.4における含水度は2.3であつた。

〔本発明繊維3〕

ヨウ化カリウム3 gを水10 mlに溶解し、これに90 mlのエタノールを混合して得た溶液中に原

料50部を島成分とし、ポリスチレン（“スタイロン”666）46部、ポリプロピレン（住友“ノーブレン”WPF-727-F）4部の混合物を島成分とする多芯海島型複合繊維（島数16、単糸繊維2.6デニール、引張強度2.9 g/d、伸度50%、フィラメント数42）50 gを、N-メチロール-α-クロルアセトアミド50 g、ニトロベンゼン400 g、98%硫酸400 gおよびパラホルムアルデヒド0.85 gからなる混合溶液中に浸し、20℃で1時間反応させた。次に、繊維を反応液から取り出し、0℃の氷水5 l中に投じて反応停止させたのち、繊維に付着した硫酸を水洗して除き、さらにメタノールで抽出してニトロベンゼンを除去した。この繊維を50℃で真空乾燥して、クロルアセトアミドメチル化ポリスチレン繊維（原料繊維）71 gを得た。

〔本発明繊維1〕

上記で得られた原料繊維3 gを100 mlの50% ジメチルアミン水溶液中に浸し、40℃で10時間加熱したのち、水で十分に洗浄して、ジメチル

料繊維3 gを浸し、50℃で5時間加熱した。次に、この繊維をトリエチルアミン50 mlと水50 mlの混合液に浸し、50℃で15時間加熱した。繊維を水、1 N-水酸化ナトリウム、水、1 M-食塩水で順次洗つて、トリエチルアンモニウムアセトアミドメチル化ポリスチレン繊維（本発明繊維3）を得た。この繊維の中性塩分解容量は1.56ミリ当量/g、全交換容量1.65ミリ当量/g、含水度（pH 7.4）は1.2であつた。

〔本発明繊維4〕

原料繊維5 gを6 N-塩酸に浸し、15時間還流加熱した。次に、繊維をギ酸20 mlとホルマリン20 mlのおよび水60 mlの混合液中に浸し、90℃で2時間加熱したのち、水、1 N-水酸化ナトリウム水溶液、水、1 N-塩酸、水で順次洗つて、ジメチルアミノメチル化ポリスチレン繊維（本発明試料4）を得た。この繊維の全交換容量は2.70ミリ当量/gで、含水度（pH 7.4）は4.0であつた。

実施例 2

リボ多糖体 E.Coli 026 : B 6 (フェノール抽出法、デイフコラボラトリーズ社製) を 0.1 mg/ml の濃度で分散させた水 10 ml に表 2 の各試料 0.20 g を入れ、37℃ で 2 時間振とうしたのち、No. 2 の定性ろ紙でろ過し、ろ液についてリボ多糖体の濃度をフェノール・硫酸法 (検体 2 ml, 5% フェノール水 1 ml, 濃硫酸 5 ml : 485 mμ) で求めた。結果を表 2 に示す。いずれの試料も、0.07 M - リン酸緩衝液で洗浄して、pH 7.4 に調整したのち、真空乾燥して用いた。

表からアミノ基含有繊維が、リボ多糖体 (グラム陰性菌細胞壁成分) の吸着に優れていることがわかる。

各試料は以下のように調製した。

表 2

試 料	リボ多糖体除去率 (%)
本 発 明 繊 維 1	77
本 発 明 繊 維 2	80
本 発 明 繊 維 3	86
本 発 明 繊 維 4	70
本 発 明 繊 維 5	62
本 発 明 繊 維 6	84
本 発 明 繊 維 7	84
本 発 明 繊 維 8	76
比 較 繊 維 1 (COOH型)	0
イオン交換樹脂 IRA-93	0
イオン交換樹脂 IRA-938	45
アンバーライト XAD-7	0
アンバーライト XAD-2	0

〔本発明繊維 5〕

実施例 1 の原料繊維 3 g を 20% ジエチルアミン・ジメチルスルホキサイド溶液中、50℃ で 7 時間加熱したのち、繊維をよく水洗して、ジエチルアミノアセトアミドメチル化ポリスチレン繊維 (本発明繊維 5) を得た。この繊維の交換容量は 2.21 ミリ当量/g で、含水度 (pH 7.4) は 0.4 であった。

〔本発明繊維 6〕

実施例 1 の原料繊維から、本発明繊維 3 を作る際のトリエチルアミンの代りにトリメチルアミン 30% 水溶液を用い、本発明繊維 3 と同様に処理して、トリメチルアンモニウムアセトアミドメチル化ポリスチレン繊維 (本発明繊維 6) を得た。この繊維の中性塩分解容量は 1.80 ミリ当量/g、全交換容量は 2.52 ミリ当量/g、含水度 (pH 7.4) は 2.2 であった。

〔本発明繊維 7〕

本発明繊維 6 を作る際のトリメチルアミン水溶液の代りにトリ n-プロピルアミン 30 g、エタ

ノール 60 g およびジメチルスルホキサイド 60 g の混合溶液を用い、同様に処理して、トリ n-プロピルアンモニウムアセトアミドメチル化ポリスチレン繊維 (本発明繊維 7) を得た。この繊維の中性塩分解容量は 1.64 ミリ当量/g であり (全交換容量も同じ)、含水度 (pH 7.4) は 1.6 であった。

〔本発明繊維 8〕

原料繊維を 6 N - 塩酸中、15 時間還流加熱したのち、水洗して得た。アミノメチル化ポリスチレン繊維である。交換容量は 3.13 ミリ当量/g で、含水度 (pH 7.4) は 2.1 であった。

〔比較繊維 1〕

本発明繊維 8 を過剰量の無水コハク酸・ピリジン (5 g/100 ml) で処理したのち、水洗して調整した。含水度 (pH 7.4) は 1.3 であった。

実施例 3

本発明繊維 3 を 5 g とり、内径 1.5 cm のクロマトカラムにつめ、無菌生理的食塩水 1 l で洗浄した。次に、Escheria coli strain B (Sigma 社)

1 mg とリボ多糖体 E. coli 055 : B5 (デイフコ社) 1 mg を溶解した生理的食塩水 1 ml を上記カラムに 20℃ で 5 ml/min の速度で通液した。溶出液についてリムラス・ブレゲル法で ~~リボ多糖体~~ ^{エンドトキシン} の存在量を調べたところ、10 ~~mg/ml~~ ^{mg/ml} 以下であつた。

実施例 4

各試料毎に 6 本の試験管 (外径 24 mm) を用意し、その中に 15 mg 、30 mg 、50 mg 、80 mg 、160 mg および 300 mg の試料を入れ、つぎに、10 ml のリボ多糖体水溶液 (E. coli 055 : B5、トリクロル酢酸抽出法、デイフコラボラトリーズ社製、0.11 mg/ml) を入れて、20℃ で 6 時間振とうしたのち、No. 2 の定性ろ紙でろ過し、ろ液についてリボ多糖体の濃度を求め、残存法で吸着能を算出して、等温吸着線を求めた。各試料の吸着能を比較するため、等温吸着線から残存濃度が 0.05 mg/ml のときの吸着能を求め、表 3 に示した。また、各試料について、牛血清アルブミン 0.6 mg/ml と牛血清 γ -グロブリン 0.6 mg/ml の混合水溶液からのアルブミン吸着能 (試料 0.3 g 、

タンパク水溶液 20 ml : 20℃、20 時間振とう : アルブミン B-テスト・ワコーによるアルブミン定量法による残存法で算出) をあわせて示す。

表から、本発明繊維はイオン交換樹脂 IRA-938 と比較して、アルブミン吸着能が低いにもかかわらず、リボ多糖体の吸着能は非常に大きいことがわかる。とりわけ、アミノ基が主鎖と長い鎖を介して結合しているもの (本発明繊維 9、10) がすぐれていた。

各試料は以下のように調製した。

表 3

試 料	リボ多糖体吸着能 (mg/g)	アルブミン吸着能 (mg/g)
本発明繊維 9	1.3	8.8
本発明繊維 10	9.0	9.1
本発明繊維 6	7.7	8.6
本発明繊維 5	5.2	4.2
本発明繊維 8	4.3	1.0
本発明繊維 4	4.0	9.3
イオン交換樹脂 IRA-938	1.7	20.7

〔本発明繊維 9〕

ヘキサメチレンジアミンの 50% 水溶液 25 ml と 50% ジメチルアミン水溶液 1975 ml の混合溶液 78 ml をとり、この中に原料繊維 5.4 g を入れ、25~30℃ で 24 時間反応させた。繊維をよく水洗したのち、pH 7.4 の 0.07 M-リン酸緩衝液で緩衝化し、50℃ で真空乾燥した。繊維 1 g 中のジメチルアミノ基の量は 2.17 ミリモル、ヘキサメチレンジアミン単位量は 0.22 ミリモル (無水酢酸によるアセチル化法で求めた) であつた。含水度 (pH 7.4) は 1.4 であつた。

〔本発明繊維 10〕

ウンデカメチレンジアミン 1.2 g を 50% ジメチルアミン水溶液 140 ml に溶解し、この中に、4.5 g の原料繊維を入れ、25~30℃ で 48 時間反応させた。繊維を 0.1 N-塩酸および水でよく洗つたのち、0.07 M-リン酸緩衝液 (pH 7.4) で緩衝化し、次に、50℃ で真空乾燥した。繊維 1 g 中のジメチルアミノ基量は 2.31 ミリモル、ウンデカメチレンジアミン単位量は 0.086 ミリモル

(アセチル化法) であつた。含水度 (pH 7.4) は 1.4 であつた。

特許出願人 東レ株式会社